

ラット脛骨関節軟骨における各細胞層の発育変化-- ダイドマークの構造変化を中心に

著者	荻原 優, 滝沢 彩音, 大迫 正文
雑誌名	東洋大学大学院紀要
巻	47
ページ	269-283
発行年	2010
URL	http://id.nii.ac.jp/1060/00000045/

ラット脛骨関節軟骨における各細胞層の発育変化 ——タイドマークの構造変化を中心に——

福祉社会デザイン研究科ヒューマンデザイン専攻博士前期課程2年

萩原 優

福祉社会デザイン研究科ヒューマンデザイン専攻博士前期課程1年

滝沢 彩音

ライフデザイン学部健康スポーツ学科教授

大迫 正文

要 旨

本研究は、関節軟骨における石灰化層やタイドマークの構造上の特徴とその機能的な意義について検討することを目的に、発育期ラットを用いて、タイドマークの形成過程や軟骨における各細胞層の発育変化を観察した。発育前期（3および5週齢）と発育後期（9および14週齢）のウイスター系雄性ラットを用い、後肢膝関節を周囲組織と共に一塊として摘出し、肉眼的および組織学的に観察した。

タイドマークは、細胞間基質の乏しい発育前期では、関節軟骨のいずれの部位においても観察されなかったが、発育後期ではそれは前方部のみ観察された。関節軟骨における石灰化層表面の形態は、発育前期ではいずれの部位も凹凸が顕著となっていたが、発育後期では、中央および後方部に顕著な凹凸がみられるが、前方部は比較的平滑であった。

発育前期でタイドマークが出現しないことに関しては、細胞間基質が乏しいことが影響していると思われる。発育後期では、関節軟骨の中央および後方部は大腿骨側からの加重を強く受け、それによる加重がそれらの部位の未石灰化層と石灰化層の界面に顕著な凹凸を生じさせ、このことがタイドマークの消失をもたらしていたであろうことが推測される。これらのことから、タイドマーク出現の有無には、関節軟骨の細胞間基質の量とそれに対する加重状態が影響し、発育に伴うその消失は関節軟骨の未石灰化層と石灰化層における勘合力の強化を意味し、これによって関節軟骨の構造的安定化を示唆するものと思われる。

キーワード：発育、関節軟骨、タイドマーク

はじめに

出生時における長骨の骨端全体は軟骨で構成されているが、その後の二次骨化点の出現によって、軟骨は骨端表面と骨幹端に局限するようになる^{1, 2)}。骨端表面の軟骨は、関節軟骨となって円滑な関節運動をもたらすと同時に、それより深部に位置する骨とともに、関節にかかる加重を受け止めている。関節軟骨は、深部の骨と強固に連結するために、関節軟骨の中でも深層は石灰化している。このように、関節軟骨には表層の未石灰化層と深層の石灰化層が存在し、それらの間にタイドマークという境界が形成され、それが軟骨の石灰化前線として重要な役割を担っている^{3, 4, 5)}。

一方、近年の人口の高齢化に伴って変形性膝関節症（OA）患者が増加しており、これが身体的な活動制限や寝たきり状態を招く可能性があることから、その治療や予防に関心が寄せられている。この関節症は関節軟骨の破綻による³⁾ものであり、関節軟骨の構造と機能の維持には、石灰化層やその深部の骨の形成状態が深く関わることから、タイドマーク付近の構造が重要な意味をもつ。OAの病理学的な組織所見では、タイドマークの不整や重複化に加え、関節表面方向への移動や軟骨下骨の肥厚が観察されている。これは、軟骨の石灰化抑制機構の破綻によって軟骨層の菲薄化をきたし、そのために力学的性質の変化が生じて、軟骨変性がさらに進むものと考えられている³⁾。しかしながら、発育期におけるその構造や形成過程に関する詳細な報告はない。そこで、本研究は関節軟骨における石灰化層やタイドマークの構造上の特徴とその機能的な意義について検討することを目的に、発育期ラットを用いて、タイドマークの形成過程や軟骨の各細胞層の発育変化を観察した。

実験方法

3, 5, 9および14週齢のウイスター系雄性ラット各22匹を用い、それらをエーテルにて深く深酔し、安楽死させた。死亡を確認した上で、ラット後肢の皮を剥離し、軟組織を丁寧に除去して下肢骨を摘出した。摘出した骨の膝関節面を歯科用エンジンにてトリミングし、脛骨の内外的中央部で矢状方向に切断した後、10%パラフォルムアルデヒドに浸漬して固定した。それらの標本を37℃のEDTAに約15～30日間浸漬して脱灰し、水洗に続いて、60、70、80、90、95および100%エタノールにて脱水した（各3時間ずつ）。さらに、安息香酸メチルⅠ～Ⅲ（各30分）、ベンゼンⅠ、Ⅱ（各20分）、ベンゼン・パラフィン混合液（30分）およびパラフィンⅠ～Ⅲ（各3時間～半日）に浸漬して透徹を行った。その後、パラフィンに包埋し、ミクロトームにて厚さ5μmの連続矢状断切片を作成した。それらの切片にヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施し、光学顕微鏡にて観察した。

また、他の矢状切断標本を用いてカルノブスキー液にて固定し、これを用いて以下のような手順でリゴラック樹脂包埋標本と走査電子顕微鏡（SEM）用標本作製した。

リゴラック樹脂包埋標本の作製では、パラフィン包埋と同様な方法にて脱水し、アセトンⅠ、Ⅱに30分ずつ浸漬し、透徹を行った。さらに、アセトンとリゴラック樹脂の混合液（1：1、1：3、1：7）およびリゴラック樹脂原液（2回）に浸漬し（各1日ずつ）、樹脂に包埋して加温重合した（37、45、55、60℃：各1日）。重合が完成したブロックを歯科用エンジンにて小さくトリミングし、砥石および3段階の研磨用フィルムを用いて研磨して、厚さ約100ミクロンの膝関節矢状断研磨標本作成した。この標本を0.1N塩酸にてエッチングしてトレイジンプルー（TB）染色を施し、光学顕微鏡により観察した。

次にSEM用標本作製では、まず、脛骨近位部を内側または外側の近位関節面の内外的中央部まで研磨し、25%次亜塩素酸ナトリウムにて関節軟骨の表面を溶解することによって、石灰化層を露出させた。それをフリーズフリーズドライヤー（日立社製・ES-2030）にて真空凍結乾燥し、次いで、カーボンコーター（真空デバイス社製・VC-100）を用いてカーボンの真空蒸着を行った。さらに、イオンスパッター（日立社製・E-1010/E-1-2-）を用いてプラチナ蒸着を施し、SEMにより関節軟骨の未石灰化層の表面形態と切断研磨面を同時に観察した。

所見

1) 発育に伴う脛骨関節軟骨および骨端海綿骨の形態変化

3週齢の関節軟骨は、前方、中央および後方のいずれの部位においても一様な厚さを示している。5週齢以降では、軟骨の厚さは発育に伴って全体的に薄くなるが、大腿骨と脛骨の関節部位が脛骨の前後の中央部よりやや後方に移動することに関連して、関節軟骨は前端部と後端部の厚さが減少し、全体的に三日月状の形態を示す。しかし、前端部と後端部の形態は同じではなく、中央部から前端部に向かうにしたがって徐々に薄くなるが、中央部から後端部に向けては急に厚さが減少している。そのため、関節軟骨は三日月状の形態をなしていても、後方部は前方部に比べ厚い（図1）。

骨端海綿骨についてみると、3週齢では関節軟骨の前端部から後端部の全ての範囲にわたって、軟骨直下に細い骨梁からなる海綿骨が存在する。しかし、その海綿骨の上下的な幅は狭く、深部の太くて長い骨梁からなる海綿骨に移行する。週齢が進むにしたがって、関節軟骨直下の細い骨梁は消失し、それらは深部のものと同様な太い骨梁に置き換えられる。この骨端海綿骨における骨梁は、全体的に網状の三次元的な配列を示すが、その主たる方向は上下方向であり、また、その密度は後方部が最も高い（図1）。

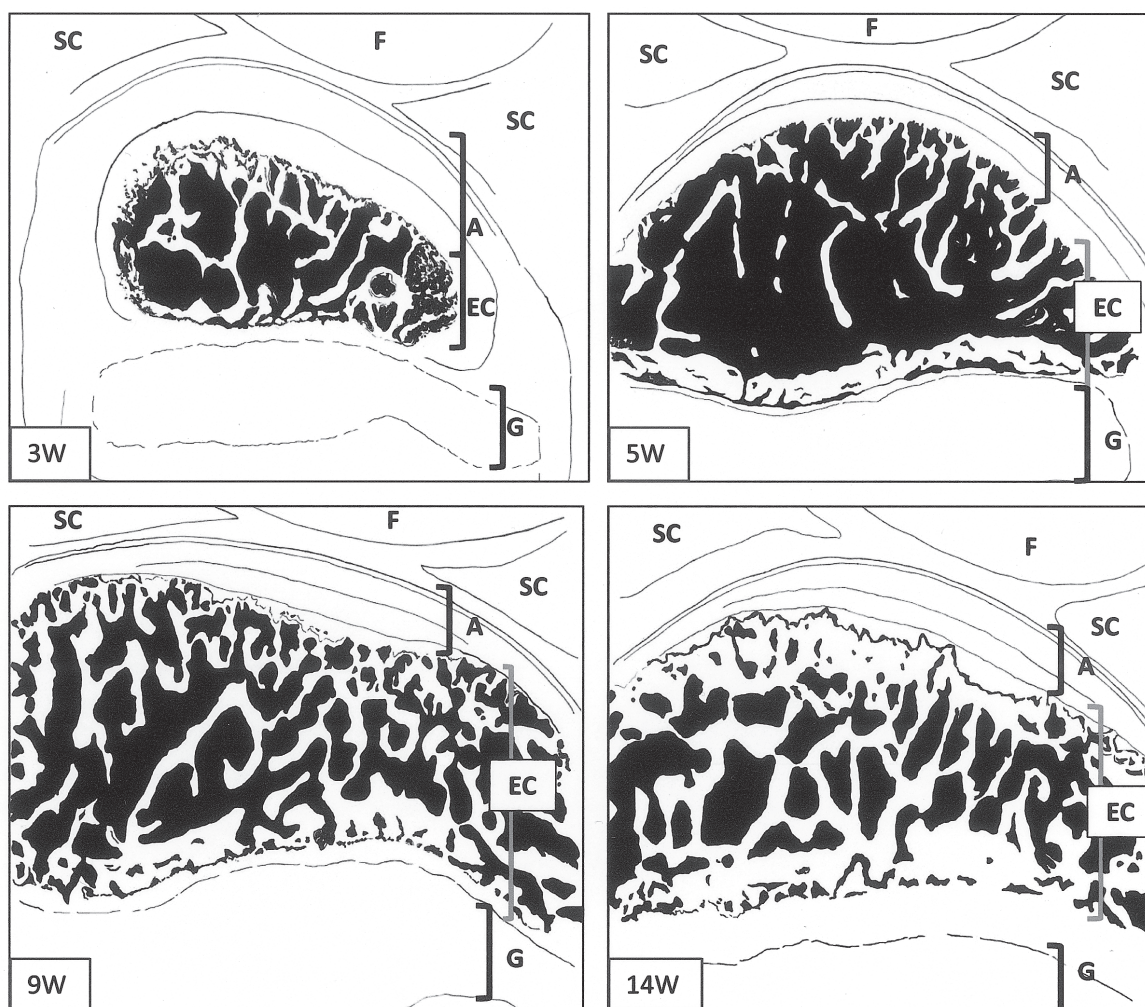


図1. 各発育段階における関節軟骨の矢状断面の模式図

いずれの図も左側が前方部、右側が後方部を示す。

F：大腿骨、A：関節軟骨、SC：関節半月、EC：骨端海綿骨、G：骨端板

大腿骨と関節する表面からAを表層、中間層、深層、石灰化層の4層に区分した。関節軟骨は、発育に伴い、全体的に厚さが減少し、その中でも深層の減少が顕著である。

骨端の海綿骨は、Aに近い部位の細く短い骨梁からなる海綿骨と、それより深部の太く長い骨梁からなる海綿骨に区分される。前者の海綿骨は、3週齢のいずれの部位においても観察される。後者の海綿骨は、網状の三次元的な配列を示すが、その主たる方向は上下方向である。これは、発育に伴って太さと密度を増す。また、骨端海綿骨の骨梁は、いずれの週齢においても後方部が密になっている。

関節軟骨を部位別に観察すると、3週齢はその厚さが一様であるが、5週齢以降から前端部と後端部の厚さが減少するために三日月状の形態を示している。

2) 発育に伴う脛骨関節軟骨の各細胞層の厚さおよび構成状態の変化

脛骨関節軟骨の断面において、軟骨を構成する細胞ならびにその構成状態の違いから、古賀³⁾の分類に従って以下のように軟骨を層区分した。すなわち、大腿骨に接する関節表面から、表層 (S)、中間層 (I)、深層 (D)、石灰化層 (C) とし、さらに骨端の海綿骨の中でも関節軟骨に接する部位を軟骨下骨 (B) とした。また、表層から深層までを未石灰化層 (NC) とし、未石灰化層と石灰化層の境界をタイドマーク (TM) とした。また、正中矢状

断面における軟骨細胞層では軟骨細胞がほぼ柱状に配列し、いわゆる軟骨細胞柱様の構造が形成されていることから（図2）、その軟骨細胞柱の長軸にほぼ平行となるように軸をとることにより、脛骨関節軟骨全体の厚みや各細胞層の厚みを観察した。

脱灰HE染色標本を用いて関節軟骨の中央部における各細胞層の構成状態についてみると、まず、3週齢では、表層の厚さは各細胞層の中で最も薄く、そこには小型で扁平な軟骨細胞が密に存在している。中間層は表層よりやや厚いが、ここの軟骨細胞は表層よりやや大きく、球形をなしている。この層の細胞密度は低く、表層よりやや細胞間基質が増加している。深層は、これまでの層に比べてかなり厚く、そこでは細胞は柱状をなして存在する。石灰化層も、深層と同様にかなり厚いが、両者は明瞭な境なく移行する。石灰化層では肥大した軟骨細胞が密に存在しており、この層自体が厚いことにも関連して、関節軟骨全体の中でこの層が占める割合は約半分にも達している。このような中央部における各層の厚さや細胞の配列状態は、後方部でも同様であるが、前方部の深層では、柱状をなす細胞が認められない（図2・3W）。

5週齢の関節軟骨中央部は、基本的に3週齢とほぼ同様な各細胞層の構成状態を示している。しかし、肥大した軟骨細胞が占める割合は減少し、それが存在する深層の厚さは関節軟骨全体のおよそ $1/3$ となる。このように軟骨細胞の肥大化が弱まることに伴い、相対的に細胞間基質が増加する。また、細胞の配列状態を観察すると、中央・後方部において、柱状に配列する軟骨細胞の割合が増え、それが明瞭に観察されるようになる。しかし、前方部では、3週齢と同様に柱状をなす軟骨細胞はみられない（図2・5W）。

9週齢と14週齢では、関節軟骨の基本構造は同様であるが（図2：9W・14W）、これらの週齢ではさらに細胞の肥大化が弱まり、細胞間基質の顕著な増加が認められる。また、9週齢から前方部においてタイドマークが出現するようになる（図4：9W・14W）。しかし、それは関節軟骨の中でも前方部のみに限定され、中央および後方部ではその存在が観察されない。軟骨細胞の配列については、9週齢以降では、柱状をなす軟骨細胞の層が前方部においても不明瞭ながら観察され、中央および後方部では、細胞が明らかに柱状をなして配列している（図2：9W・14W）。

非脱灰の研磨標本にTB染色を施して観察すると、いずれの週齢においても石灰化層の領域がTBで濃く染色されるのが認められる。しかし、3週齢では、その濃く染まる部位は、肥大した細胞の間の狭い基質にわずかに見られる程度であるため、未石灰化層から石灰化層への移行部の染色性の違いは不明瞭となっている（図3：3W）。5週齢以降では、細胞間基質の増加に伴い、TBに濃く染まる面積が広くなる。未石灰化層と石灰化層の界面の形状は、前方部は比較的平滑であるが、中央・後方部では顕著な凹凸が観察される（図3：5-14W）。

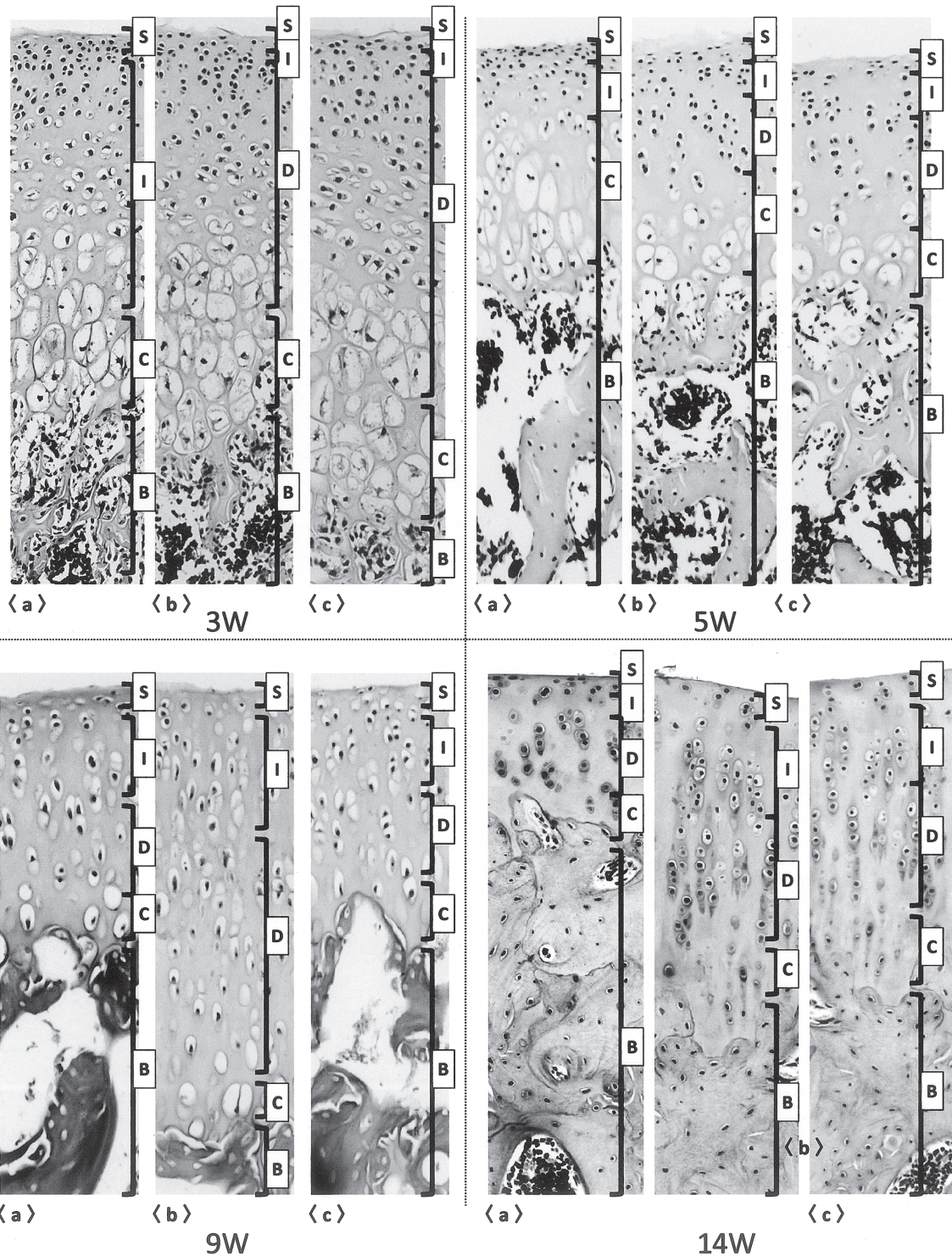


図2. 各発育段階における関節軟骨の各細胞層の構成
(脱灰パラフィン矢状断切片、HE染色)

a: 前方、b: 中央、c: 後方、 S: 表層、I: 中間層、D: 深層、C: 石灰化層、B: 軟骨下骨

3) 発育に伴う未石灰化層と石灰化部層の境界をなす界面形態の変化

SEM観察においては、同一標本の中で、関節軟骨の表面側から次亜塩素酸ナトリウムに

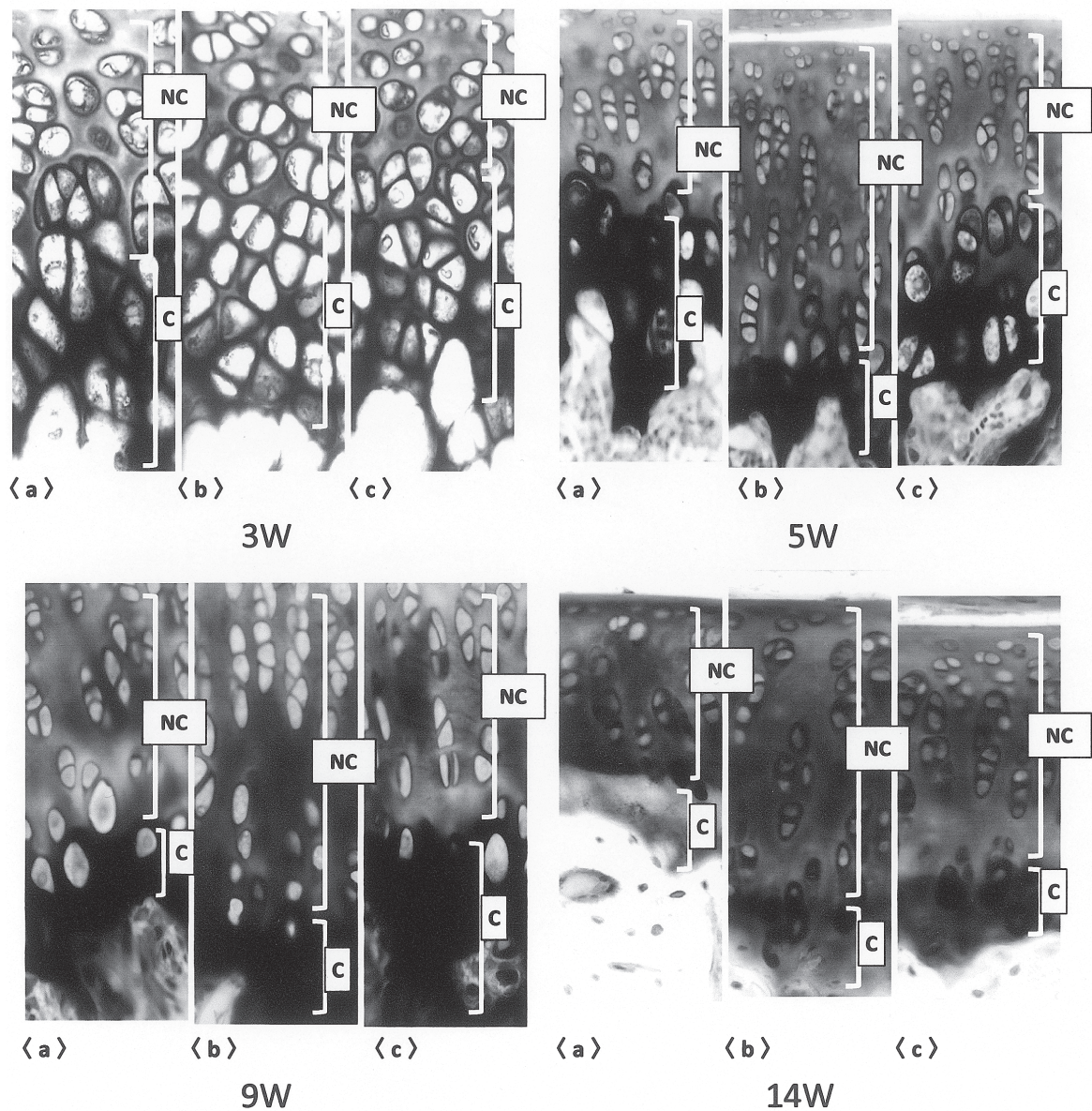


図3. 各发育段階における関節軟骨のタイドマーク付近の構造
(非脱灰リゴラック樹脂包埋標本、トレイジンブルー染色)

a: 前方、b: 中央、c: 後方、NC: 未石灰化部位、C: 石灰化部分

3週齢の関節軟骨深層および石灰化層では、肥大した軟骨細胞が最も多く認められているが、週齢が進むにつれて細胞の肥大化が低下するとともに、この層の占める範囲が減少する。いずれの週齢においても石灰化層の領域はTBで濃く染色される。しかし、3週齢では、その濃く染まる部位は、肥大した細胞の間の狭い基質にのみ認められ、NCとCの界面の凹凸が小さく、石灰化層に移行する部位の染色性の違いは不明瞭であった。5週齢以降では、細胞間基質の増加に伴い、TBに濃く染まる面積が広くなる。NCとCの界面の形状は、前方部は比較的平滑であるが、中央・後方部では顕著な凹凸が認められる。

より溶解し石灰化層まで露出させた面と、矢状方向に切断、研磨した面を作成し、観察した。前者を石灰化層露出面とし、後者を切断研磨面とした。なお、この観察においても、組織切片と同様に前方、中央および後方部に分類して観察した。

石灰化層露出面における形態をみると、3週齢では、前方、中央、後方部のいずれの部位

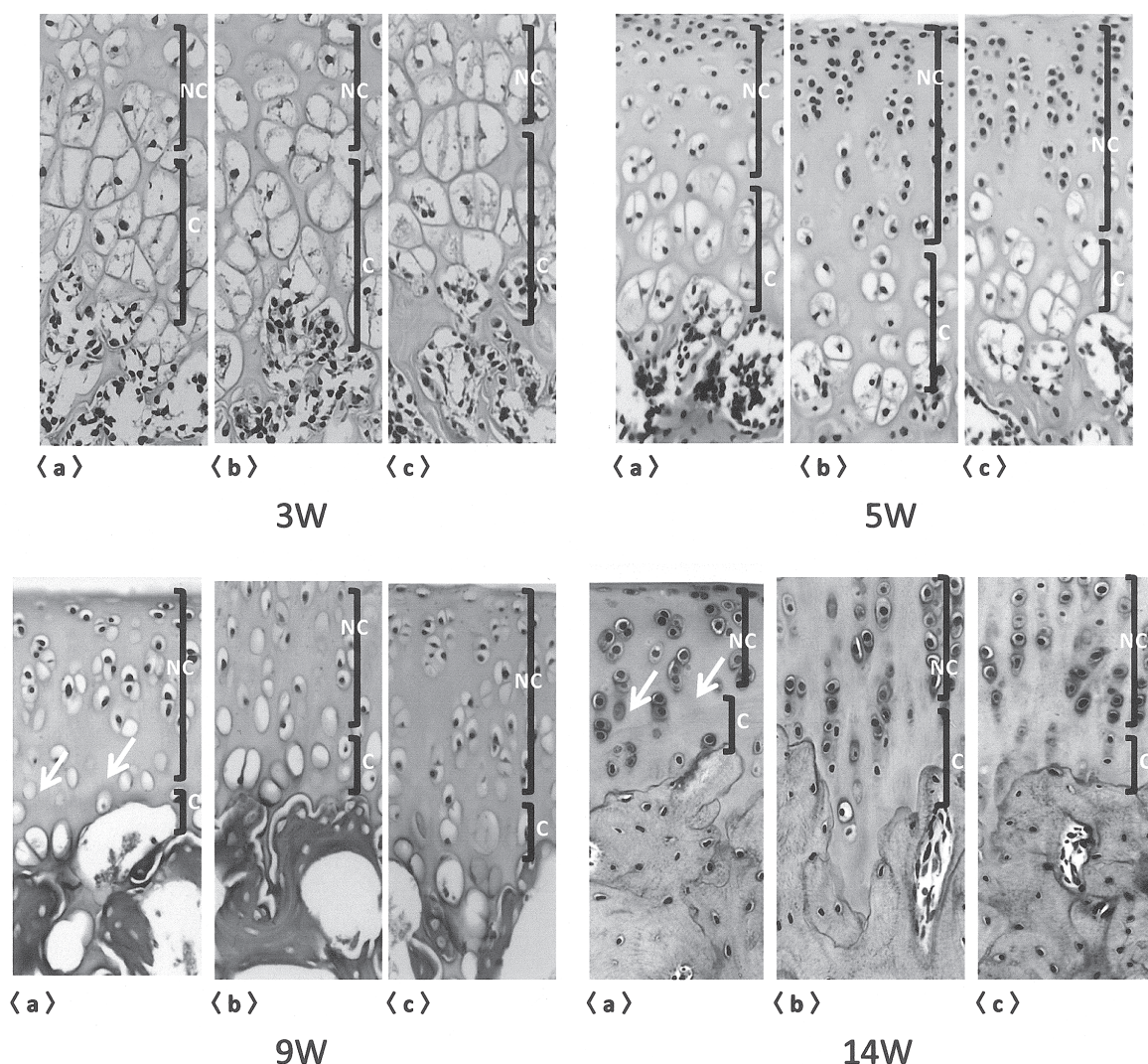


図4. 各発育段階における関節軟骨のタイドマーク付近の構造
(脱灰パラフィン矢状断切片、HE染色)

a：前方、b：中央、c：後方、NC：未石灰化部位、C：石灰化部分、↓：タイドマーク

3週齢および5週齢では、NCとCとの界面を成すタイドマークは、いずれの層においても不明瞭である。一方、9週齢以降では、前方部においてのみタイドマークが線状を成しているが、中央部・後方部においては、その存在は不明瞭となっている。

においても明瞭に石灰化層を露出することができず、未石灰化層と石灰化層が混在している。また、この週齢では肥大した軟骨細胞が密に存在しており、石灰化部位が明瞭に観察されない（図5・6：3W）。5週齢も3週齢とほぼ同様の形態を示し、特に前方部には密に肥大軟骨細胞が存在する。しかし、中央および後方部では肥大した軟骨細胞の間隙がやや広がり、石灰化層表面に凹凸が多く出現する（図5・6：5W）。また、それぞれの週齢の切断研磨面を見ると、3週齢では細い骨の断面が不連続に観察されるが、5週齢では断面が3週齢より明瞭に観察でき、その形状は凹凸に富んでいる。この凹凸は、特に中央および後方部において観察され、前方部はそれに比べ平滑になっている。

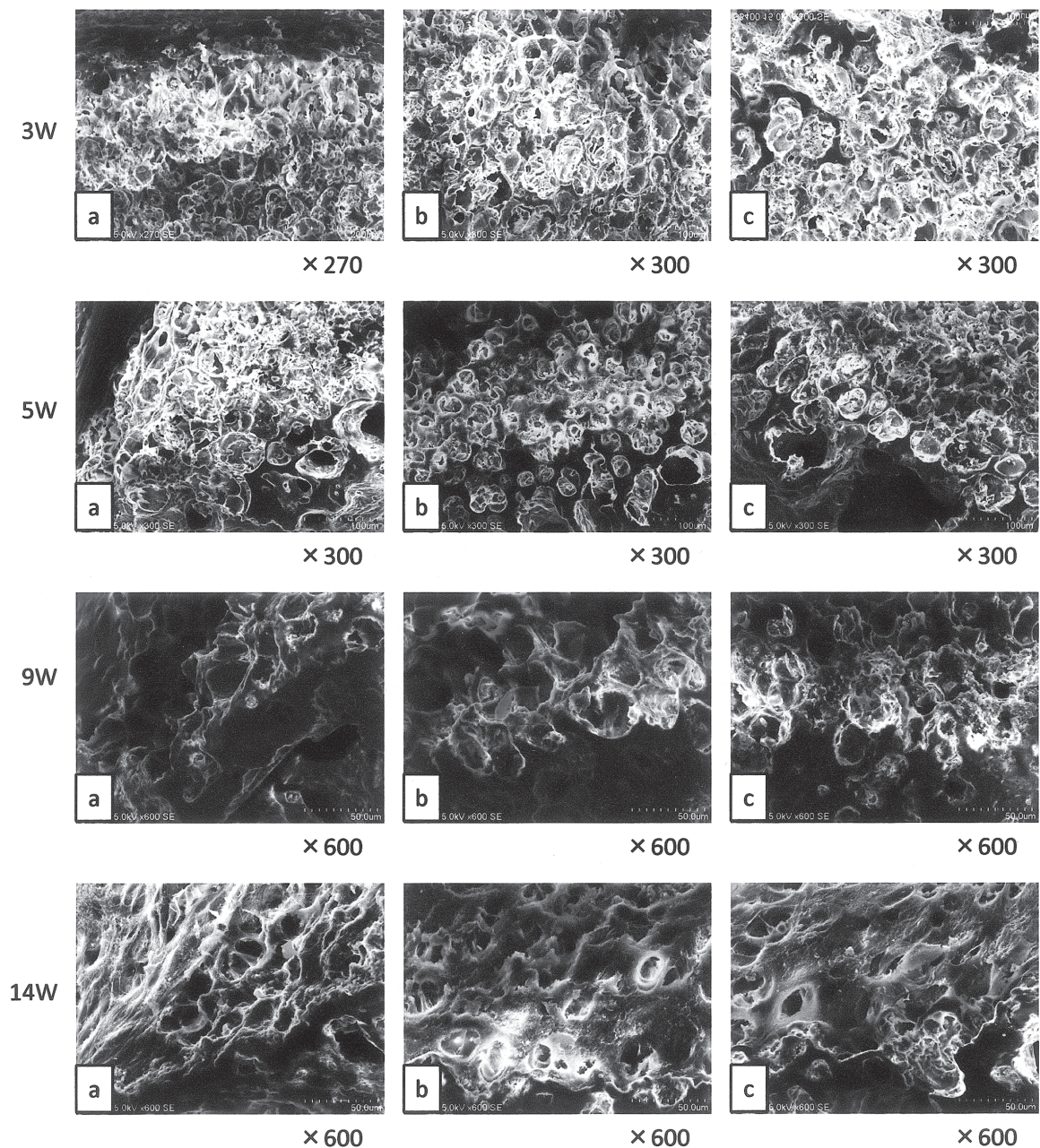


図5. 25%次亜塩素酸ナトリウムによって露出した石灰化層表面および切断研磨面の構造

a: 前方、b: 中央、c: 後方

9週齢以降では、5週齢までと異なり、未石灰化部位が確実に溶解され、石灰化層露出面の断面形態には全体的に多くの凹凸が認められる。しかし、部位別にみると、中央および後方は断面の連続性が断たれる部位が多くみられるのに対して、前方部は連続的で界面が比較的平滑である（図5・6：9・14W）。

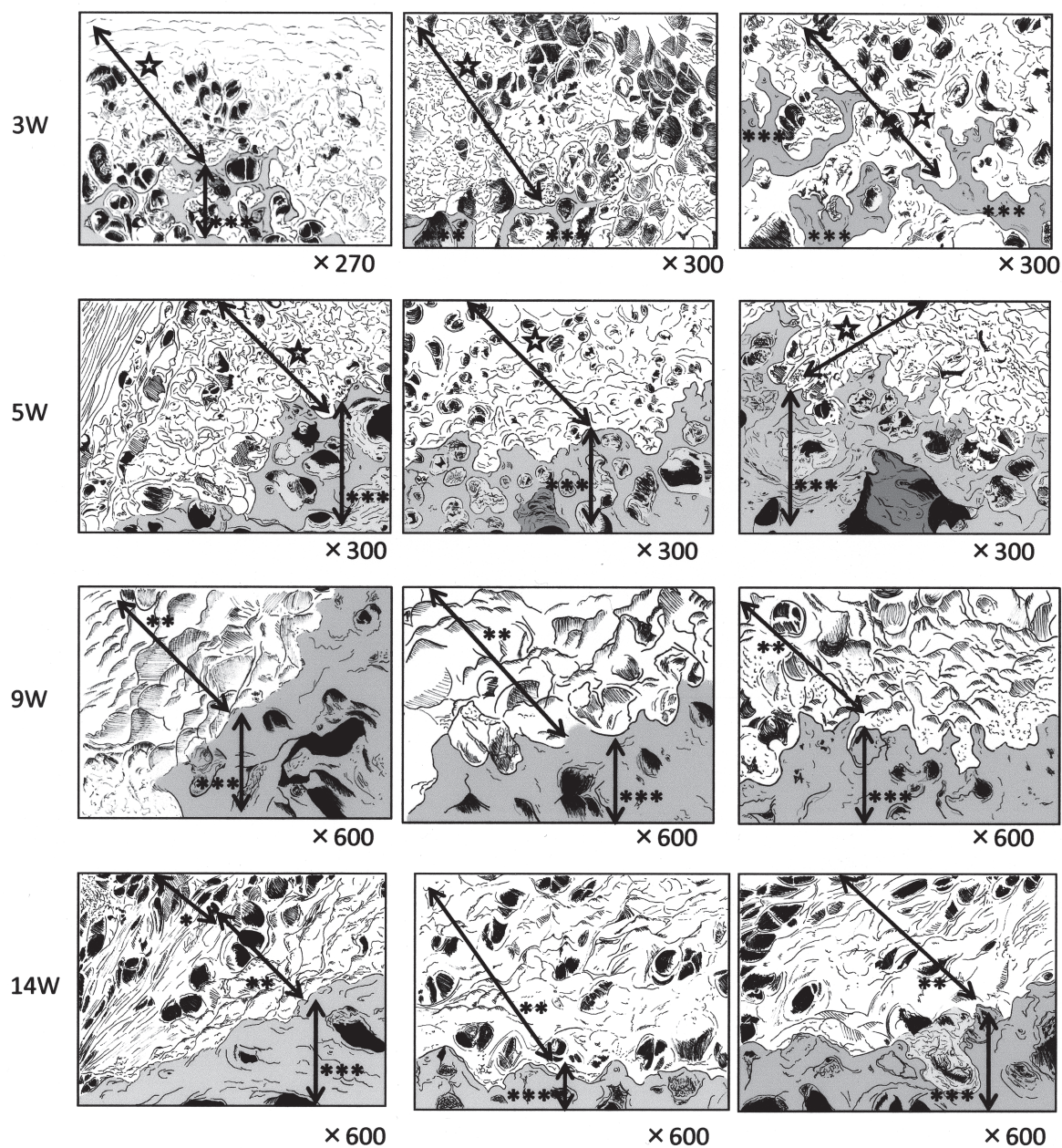


図6. 関節軟骨の次亜塩素酸ナトリウム処理によって露出した石灰化層表面および切断研磨面のトレース像

a: 前方、b: 中央、c: 後方、☆: 石灰化層と未石灰化層の混合部位、*: 次亜塩素酸処理によって溶解された未石灰化層、**: 同処理によって露出した石灰化層、***: 切断研磨面

3および5週齢では、明瞭に石灰化層を露出することができず、石灰化層と未石灰化層が混在している。しかし、9週齢以降では、石灰化層露出面には、いずれの部位においても顕著な凹凸が見られた。切断研磨面の縁の形状は、中央および後方部は断面の連続性が断たれる部位がみられるのに対して、前方部は連続的で界面が比較的平滑である。

考察

1) タイドマークの出現について

非脱灰の研磨標本にTB染色を施した標本でみると、いずれの週齢にも石灰化層は存在するが、脱灰切片のHE染色標本では、9および14週の前部においてのみ、タイドマークが観察されており、このタイドマークの出現の有無に関しては、次のことがその理由として考えられる。

一般に、軟骨の湿重量の約65–80%は水分である。残りの約20–35%の成分のうち、50%がコラーゲン線維、30–35%がプロテオグリカン、15–20%が非コラーゲン性タンパクである^{3, 4, 6)}。このように関節軟骨内には膠原線維が最も多く存在し、それを構成するコラーゲンには種々のタイプものが含まれるが、主要となるのはⅡ型コラーゲンである。また、それらの分布は関節内の部位によって異なる^{7, 8)}。関節軟骨の肥大軟骨細胞層には石灰化に関わるX型コラーゲンが存在することや^{2, 3, 6, 9)}、コラーゲンが発育に伴ってタイドマークの付近で最も明瞭に観察されることが示されている¹⁰⁾。これらのことから、X型コラーゲンは、石灰化前線という機能的な意味をもつタイドマークにおいて、軟骨の石灰化にも大きく関与していると考えられる。また、X型コラーゲンは、OAモデルマウスにおいても観察されるが、そこではタイドマークの変性や重複化が観察されていることから^{3, 4, 6, 11)}、X型コラーゲンは関節軟骨の構造維持に深く関わるとされている^{7, 8)}。

本研究では、免疫染色は行っておらず、発育に伴う膠原線維の出現変化については推測の域を越えない。しかし、上記の報告から発育に伴って増加する基質線維にX型コラーゲンが多く含まれており、それを起点に石灰化が生じるとされる。また、そのX型コラーゲンが未石灰化層と石灰化層に連続して存在することにより、両者の結合をより強固なものにしているであろうことが推測される。

安孫ら¹²⁾は、発育に伴う膠原線維の染色性の上昇が、透過電子顕微鏡で観察される膠原線維の増加に一致することを確認し、そのことから膠原線維の量が成長と共に増加することを報告している。本研究では、3および5週齢で肥大した細胞が密に存在するために細胞間基質が乏しく、それに対して、9および14週齢では、細胞の肥大化が弱まることによって細胞間基質の面積が広がることを確認している。そのため、3週齢では深層と石灰化層の境界部で石灰化が生じても、その基質が乏しいためにタイドマークが確認できず、反対に、9および14週齢では細胞間基質が広がるために石灰化部位をタイドマークとして観察できるようになると思われる。このように、3および5週齢でタイドマークが観察されず、9および14週齢でタイドマークが観察されたことは、関節軟骨における細胞間基質の面積の違いが影響していると考えられる。

著者ら¹³⁾は、3および10週齢のラットを用いた4週間の不動実験を行い、脱灰HE染色標本

の観察によって、不動群においてのみ関節軟骨の前方、中央、後方部のいずれの部位に、線状のタイドマークが明瞭に観察されることを報告している。また、その報告の中で、SEM標本の観察により、不動群の石灰化層の表面形態がいずれの部位においても対照群より凹凸が弱く、また、切断研磨面の形状も連続的で平滑であることも明らかにしている。

本実験では、タイドマーク出現の有無の発育変化を、前方、中央および後方の部位別に観察している。その結果、5週齢以前の発育初期ではいずれの部位においてもタイドマークは認められていない。しかし、9週齢以降の発育後期では、それは前方部においてのみ見られ、中央および後方部では観察されない。発育前期にタイドマークがいずれの部位においても出現しないことに関しては、上述のごとく、肥大軟骨細胞の密度が高く、基質が狭いことが影響していると思われる。

しかし、発育後期の中央および後方部にそれが出現しないことに関しては、発育前期とは別の機序によるものと考えられる。豊島¹⁴⁾らは大きな加重を受ける部位は非荷重部に比べて、タイドマークの起伏が有意に富むことを報告しており、また、Barbaraら¹⁵⁾は加齢に伴ってタイドマークが増加することを報告している。このように、タイドマーク出現の有無に関しては加重条件が深く関わる。本実験のSEM標本の観察でも、9週齢以降では、5週齢までと異なり、中央および後方部は断面の連続性が断たれる部位が多くみられるのに対して、前方部は連続的で界面が比較的平滑となっている。発育後期では、関節軟骨の中央および後方部は大腿骨側からの加重を強く受け、それによる加重がそれらの部位の未石灰化層と石灰化層の界面に顕著な凹凸を生じさせ¹⁴⁾、このことがタイドマークの消失をもたらしていたであろうことが推測される。

これらのことから、関節軟骨におけるタイドマーク出現の有無には、関節軟骨の細胞間基質の量と、それに対する加重状態が影響すると思われる。また、後者に関しては、加重に抵抗するために、未石灰化層と石灰化層の癒合を高められ、両層の構造的安定化を図ることがタイドマーク消失をもたらしていたと考えられる。

2) 関節軟骨の部位別の構造変化

ラットの場合、大腿骨と関節する脛骨の関節軟骨や関節半月は、脛骨近位骨端の前後の中央部よりやや後方に位置している。ラットは四足歩行の運動形態をとり、四肢は屈曲した状態をとることが多い。すなわち、大腿骨が脛骨に接する部位は、脛骨骨端表面の中でも前後の中央部よりもやや後方であり、そのため、大腿骨側からの加重は脛骨近位骨端や関節軟骨の後方に集中する。このことから、本研究では両者が関節する位置関係を考慮し、関節軟骨や骨端の海綿骨を前方、中央、後方部と区分して観察を行った。

骨への機械的負荷と骨構造の変化の関連性はWolffの法則によって説明されているように、骨梁の配列状態は骨に加えられる加重によって決定される¹⁷⁾。関節軟骨は、5週齢以降では、

中央部が最も厚く、後方部は次に厚く、前方が最も薄い。骨端海綿骨の骨梁は基本的に上下的な方向に配列しているが、それは後方部で特に密に存在している。このような構造をWolffの法則に当てはめて考えれば、大腿骨側からの加重は主に脛骨の近位骨端の前後的な中央部より後方にもたらされていることが推測される。

細胞の配列状態をみると、3週齢の中央部の、しかも表層付近から細胞が柱状に配列し始める。5週齢では、中央部の中間層や深層にまでそのような傾向がみられ始め、また、この週齢では、後方部においても同様の傾向がみられる。9週齢以降では、前方部においても明瞭ながら同様の傾向が始めるが、やはり中央および後方部では、細胞が明らかに柱状をなして配列している。このように、軟骨の細胞が柱状をなすのは、3週齢の中央部から始まるが、それ以降の週齢では、後方でも明瞭となっている。柱状に配列した細胞の間隙、すなわち、細胞間基質には線維が存在し、それは柱状に配列した細胞と平行に配列し、関節軟骨の表面に関しては、直交する方向に配列している。関節軟骨における膠原線維は、成長に伴い、その配列やタイプの分布が変化すること^{7, 8, 16)}や、機能に適応した膠原線維と軟骨細胞の配列は、関節軟骨に弾性力を与える³⁾とされている。したがって、関節軟骨におけるこれらの基質線維は、関節軟骨に対する加重に抵抗するものであり、特に中央および後方部において細胞が柱状に配列することを考慮に入れると、それらの部位に大きな加重がかかっているであろうことが推測される。

結論

発育に伴って関節軟骨の中央および後方部においてタイドマークが消失することは、未石灰化層と石灰化層における勘合力の強化を意味し、これによって関節軟骨の構造的安定化が図られているであろうことが理解された。

なお、本研究は福祉社会デザイン研究科研究等倫理委員会の審査により承認された。

謝辞

稿を終わるに臨み、多くのご協力をいただいた研究室の方々に深謝致します。

参考文献

- 1) 藤田恒夫、藤田尚男：標準組織学 総論. 第4版 pp.181-209 医学書院, 2002.
- 2) 松本歯科大学大学院硬組織グループ：Hard Tissue 硬組織ハンドブック. MDU出版会, 2008.
- 3) 古賀良生：変形性膝関節症 病態と保存療法 OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE

- Epidemiology, Biomechanics, and Conservative Treatment. pp18-23, 南江堂, 2008.
- 4) 沖田実：関節可動域制限－病態の理解と治療の考え方. P130, 三輪書店, 2008.
 - 5) Havelka, S, Horn, V, Spohrova, D, Valouch, P : Acta Biol Hung, 35 : 271-279, 1984.
 - 6) 久保俊一、高橋譲二：関節軟骨の破壊と修復の機序 理学療法学. 28 : 70-75, 2001.
 - 7) Sasano, Y., Furusawa, M., Ohtani, H., Mizoguchi, I., Takahashi, I., Kagayama, M. : Chondrocytes synthesize type I collagen and accumulate the protein in the matrix during development of rat tibial articular cartilage. Anat Embryol 194 : 247-252, 1996.
 - 8) MORRISON, E. H., FERGUSON, M. W. J., BAYLISS, M. T., ARCHER C. W. : The development of articular cartilage : I, The spatial and temporal patterns of collagen types. J. Anat. 189 : 9-22, 1996.
 - 9) Ashida, T. : Immunohistochemical studies of type I, II and X collagen in the mandibular cartilage of growing rats. Jpn. J. Biol., 38 : 80-88, 1996.
 - 10) Eerola, I., Salminen, H., Lammi, P., Lammi, M. laus von der Mark, K., Vuorio, E., Säämänen, A. -M. : Type X collagen, a natural component of mouse articular cartilage : Association with growth, aging, and osteoarthritis. Arthritis & Rheumatism 41 : 1287-1295, 1998.
 - 11) Oettmeier, R., Abendroth, K., Oettmeier, S. : Analyses of the tidemark on human femorals. II. Tidemark changes in osteoarthrosis — a histomorphometric study in non-decalcified preparations. Acta Morphol Hung. 37 : 169-180, 1989.
 - 12) 安孫子幸子、松浦奈津江、川真田聖一：ラット膝関節と椎間円板の軟骨における膠原線維発達 広島大学ジャーナル 2 : 34-40, 2002.
 - 13) 荻原優、滝沢彩音、鈴木哲郎、大迫正文：ラット後肢不動化に伴う脛骨関節軟骨の構造変化に関する観察 第65回日本体力医学会大会予稿集, P300, 2010.
 - 14) 豊島良太、大塚哲也：関節軟骨の表面・最表層構造および軟骨下骨結合部の形態学的研究 KAKEN科学研究費補助金データベース, 1992.
 - 15) Koszyca, B., Fazzalari b, N. L., Vernon-Roberts, B. : Quantitative analysis of the bone-cartilage interface within the knee. The Knee 3 : 23-31, 1996.
 - 16) Gannon, J. M., Fischer, G. W., Carpenter, M. R., Thompson Jr., R. C., Oegema Jr. T. R. : Localization of type X collagen in canine growth plate and adult canine articular cartilage. J. Orthopaedic Res., 2005.
 - 17) Cowin. S. C : Bone stress adaptation model, Trans. ASME, J. Biomech. Eng. 115 : 528-533, 1993.

Changes in Cell layers of Tibial Articular Cartilage in growing rat —Structural Changes of Tidemark—

OGIWARA, Yuh
TAKIZAWA, Ayane
OHSAKO, Masafumi

SUMMARY

The purpose of this study was to evaluate and investigate the structural characteristics and their functional significance of calcified cell layer and tidemark of articular cartilage, according to observe tidemark forming processes and changes in cell layers of the articular cartilage in growing rats. Materials were used wistar strain male rats of 3 and 5 weeks old as early growing stage and 9 and 14 weeks old as later growing stage. They were sacrificed under anesthesia, femurs and tibiae were excised, and those specimens were analyzed and observed histologically.

Tidemarks were recognized in every portion at the early growing stage that indicated scarce extracellular matrix, and in only posterior portion at the later stage. Surface of calcified cell layer was rough at ever portion in the early growing stage and middle and posterior portions in the later growing stage, but it was smooth at anterior portion in later one, comparably.

It was thought that scarce of extracellular matrix affected no appearance of the tidemark at the early growing stage. On the other hand, at the later growing stage, it was speculated that more mechanical stress to middle and posterior portion of articular cartilage from femur gave rough structure to interface between uncalcified and calcified layers, and affected no appearance of the tidemark.

Therefore, it was thought, that the tidemark appearance was related in volume of extracellular matrix and weighting condition to articular cartilage, and that disappearance of tidemark meant that the uncalcified and calcified cell layers engaged stiffly and structural stabilization of articular cartilage.